文章编号：0454-6296（2000）增刊-0119-07

中红侧沟茧蜂对棉花挥发性物质的触角电位反应

董文霞，王 睿，张钟宁*
（中国科学院动物研究所，农业虫鼠害综合治理国家重点实验室，北京 100080）

摘要：中红侧沟茧蜂 *Microplitis mediator*（Haliday）是棉铃虫 *Helicoverpa amigera*（Hübner）的主要寄生蜂之一。在寻找害虫的过程中，害虫的寄主植物释放出的气味起着至关重要的作用。本文测定了中红侧沟茧蜂雌蜂对棉花中 17 种气味物质的触角电位反应，比较了雌雄茧蜂对 6 种气味反应的差别，并且测定了雌蜂对 4 种气味物质的剂量-反应。结果表明，在所测的气味物质中，中红侧沟茧蜂对脂肪族化合物的反应最强，对芳香族化合物的反应居中，而对萜类化合物的反应较弱。对所测的气味物质的反应，雌雄茧蜂之间的差异不显著。雌蜂对正己醛、苯乙酮、正壬醇的反应阈值为 25 μL，对苯甲醛的反应阈值为 250 μL，在所测的浓度范围内，对 4 种化合物的反应均未达到饱和。

关键词：中红侧沟茧蜂；挥发性物质；触角电位反应；剂量-反应曲线
中图分类号：Q966 **文献标识码**：A

中红侧沟茧蜂 *Microplitis mediator*（Haliday）是棉铃虫 *Helicoverpa amigera*（Hübner）的主要寄生蜂之一，对棉铃虫各世代低龄幼虫的平均寄生率可达 22.9%[1]。寄生蜂能否成功的寄生于害虫，很大程度上取决于能否成功地寻找到害虫。许多实验表明，在寄生蜂寻找害虫的过程中，害虫的寄主植物释放出的气味起着至关重要的作用[2~4]。棉铃虫的主要寄主植物——棉花中的挥发性物质在中红侧沟茧蜂寻找寄主中的作用机制，目前还不清楚。

早在 30 多年前，一些科研人员就着手于棉花中挥发性物质的研究。Minyard 等人（1965，1967，1968，1969）首先从棉花 *Gosspypium hirsutum* L. Var. Deltapine Smoothleaf 提取鉴定出 α-蒎烯、莰烯、苎烯、萜品油醇、β-石竹烯、红没药烯、氧化石竹烯等成分，并且发现 α-蒎烯、苎烯、β-石竹烯、氧化石竹烯对棉花象甲 *Anthonomus grandis* Boheman 具有引诱作用，其中氧化石竹烯的引诱活性最强[5~8]。之后，Gueldner 等人（1970）鉴定出里那醇等成分，并发现里那醇对棉花象甲也有引诱作用[9]。Hedin 等人（1971，1972，1975，1976）发现棉花中含有顺-3-己烯醇、正壬醇、苯乙酮、苯甲醛、枯茗醛、正己醛、3-蒈烯[10~13]。Röse 等人（1996）发现棉叶释放的挥发性物质中包括顺-3-己烯基乙酸酯[14]。棉花中各成分的含量差别很大。醇类占全部挥发性物质的 16.3%，顺-3-己烯-1-醇为 5.6%，正壬

基金项目：中国科学院重点项目（K2952-S1-109）
* 通讯联系人
收稿日期：1999-12-19；修订日期：2000-03-06

醇为0.4%[10]。苯乙酮、苯甲醛、枯茗醛的含量分别为0.9%，0.7%，0.4%[12]。Elzen等人（1985）比较了不同性状的棉花中萜烯类化合物的含量，发现有腺棉中的萜烯类化合物可占全部挥发性物质的20.6%～100%。β-石竹烯的含量最高，一般在182 μmol/L～248 μmol/L之间，苎烯的含量为8 μmol/L～15 μmol/L，α-蒎烯为90 μmol/L～142 μmol/L，氧化β-石竹烯为0～78 μmol/L[15]。

本文利用触角电位技术，测定了中红侧沟茧蜂对17种棉花气味物质的电生理反应，试图为探索该蜂寻找寄主的机制提供理论依据，进而为其在生物防治中的应用提供基础。

1 材料与方法

1.1 棉花气味物质标准样品的制备

本文测定触角电位所用标样的浓度主要是参考Li等人（1992）测定红足侧沟茧蜂 *M. croceipes* 对29种棉花气味物质的触角电位的实验结果[16]。将每种标准样品溶于液体石蜡中，在旋涡混合器上充分混合，配成浓度为100 μg/μL的溶液。其中，用于做剂量反应曲线的样品样品正壬醇、正己醛、苯乙酮、苯甲醛还配了0.001 μg/μL～100 μg/μL浓度系列（浓度以10倍递增）。各样品名称及其纯度、来源见表1。

表1 触角电位实验所用化学样品名称及其纯度、来源一览表

Table 1 Source and purity of volatile compounds used in EAG studies

样品名称 Compound	纯度（%）Purity（%）	来源 Source of supply
脂族化合物		
正壬醇 Nonan-1-ol	化学纯	Roth
顺-3-己烯-1-醇 cis-3-Hexen-1-ol	>97	东京化成
正己醛 Hexanal	分析纯	Sigma
顺-3-己烯基乙酸酯 cis-3-Hexen-1-yl acetate	>97	东京化成
芳香族化合物		
苯乙酮 Acetophone	分析纯	北京瀛海精细化工厂
苯甲醛 Benzaldehyde	分析纯	武汉盛世精细化工有限公司
枯茗醛 Cuminaldehyde	>97	东京化成
萜类化合物		
里那醇（±）-Linalool	97	Aldrich
α-蒎烯（-）-α-Pinene	99	Fluka
（-）-苎烯（-）-Limonene	>95	东京化成
（+）-苎烯（+）-Limonene	>95	东京化成
莰烯（±）Camphene	>80	东京化成
萜品油烯 Terpinolene	>85	东京化成
（+）-3-蒈烯（+）-3-Carene	>90	东京化成
β-石竹烯 β-Caryophyllene	>80	东京化成
氧化石竹烯 Caryophyllene oxide	90	Sigma
红没药烯 Bisabolene	分析纯	东京化成

1.2 实验昆虫

中红侧沟茧蜂由人工饲养而得，以粘虫为中间寄主。粘虫用以玉米为主的人工饲料进行饲养，光照条件为L:D=16 h:8 h，温度为26℃。用粘虫的2龄幼虫接中红侧沟茧蜂。

1.3 触角电位记录

测定前将茧蜂的一根触角自基部切下，在双目实体显微镜（Syetech WP-15）下，将参考电极插入触角的基部，记录电极套在触角的端部。玻璃电极由毛细管拉制器拉成，毛细管内

径为0.2 mm，在玻璃电极内注适量的Ringer's电生理盐水。在玻璃电极中插入直径为0.2 mm的银-氯化银电极，银-氯化银电极装在微动操作仪（Syntech MP-15）上，后者连接有直流/交流放大器（Syntech UN-06），刺激放大器（Syntech CS-05）和计算机。用Syntech软件记录数据。

将25 μL样品溶液均匀地滴在长为6 cm、宽为0.5 cm的滤纸条上，放入滴管中，滴管末端连接气体刺激控制装置。刺激气体流量为20 ml/min，连续气体流量为124 mL/min。每次刺激时间为0.1 s，每两次刺激的时间间隔为30 s以上。测定中红侧沟茧蜂对标准100 μg/μL的顺-3-己烯醇的反应时，选取雌雄茧蜂的触角各20根，每根触角刺激5～10次。其它每种样品测试茧蜂触角各8根，每根触角重复刺激5～10次。测试中红侧沟茧蜂对不同浓度的4种化合物的反应每根触角测试完所设的6种浓度样品，选取触角10根。以浓度为100 μg/μL的顺-3-己烯醇作为标准,将触角电位的绝对值转化为相对值。

1.4 数据处理

利用Duncan's多重分析法分析比较中红侧沟茧蜂对各挥发性物质的触角电位反应的差异。利用 *t*-测验分析比较雌雄茧蜂之间的反应差异。触角电位的反应阈值利用Li等人(1992)的定义“如果某个刺激剂量下的触角电位平均值减去标准差所得的值，大于最低剂量刺激下的触角电位平均值加上标准差所得的值，那么该刺激剂量就是反应阈值[16]。

2 结果

2.1 中红侧沟茧蜂对顺-3-己烯醇的触角电位反应

雌蜂对顺-3-己烯醇触角电位值平均值为(2.931±0.312)mV,雄蜂为(2.814±0.440)mV。经过 *t*-测验证明，雌蜂和雄蜂之间没有显著性差异（$P<0.05$）。

表2 中红侧沟茧蜂对棉花气味物质的触角电位反应的平均值

Table 2 Mean EAG values of M. mediator to cotton plant volatile compounds

化合物 Compound	雌蜂的EAG相对平均值 Mean EAG relative values of females	雄蜂的EAG相对平均值 Mean EAG relative values of males
正己醛	2.253±0.223 a	2.197±0.229 a
顺-3-己烯基乙酸酯	1.729±0.208 b	1.730±0.234 b
苯甲醛	1.293±0.197 c	1.264±0.125 c
苯乙酮	1.270±0.119 c	1.304±0.227 c
正壬醇	0.687±0.109 d	0.697±0.189 d
(+)-柠檬烯	0.448±0.054 e	0.430±0.050 e
枯茗醛	0.414±0.087 ef	
(−)-柠檬烯	0.374±0.063 ef	
里哪醇	0.319±0.036 f	
萜品油烯	0.242±0.087 fg	
β-石竹烯	0.175±0.056 g	
(+)-3-蒈烯	0.137±0.022 g	
α-蒎烯	0 h	0 f
(±)-莰烯	0 h	0 f
没红药烯	0 h	0 f
氧化石竹烯	0 h	0 f

注：表中同一列数据采用Duncan's多重比较分析，具有不同字母的平均值间的差异达到显著水平（$P<0.05$）

2.2 中红侧沟茧蜂对棉花挥发性物质的触角电位反应

由表2可知，在所测定的16种化合物中，中红侧沟茧蜂的雌蜂对脂肪族化合物反应值最

大，对芳香族化合物的反应居中，对萜类化合物反应值较小或者不反应。在所测定的10种化合物中，雄蜂对各类化合物的反应情况与雌蜂相似。在脂肪族化合物中，中红侧沟茧蜂对正己醛的反应最强，对顺-3-己烯基乙酸酯的反应居中，对正壬醇的反应最弱。在芳香族化合物中，中红侧沟茧蜂对苯乙酮、苯甲醛的反应接近，对枯茗醛的反应较弱。在萜类化合物中，中红侧沟茧蜂对（+）-苎烯的反应值较大，对里那醇的反应居中，对β-石竹烯和（+）-3-蒈烯的反应值很小，对α-蒎烯、（±）-莰烯、没红药烯、氧化石竹烯则不反应。说明在中红侧沟茧蜂寻找寄主的过程中，各种植物挥发性物质所起的作用不同。

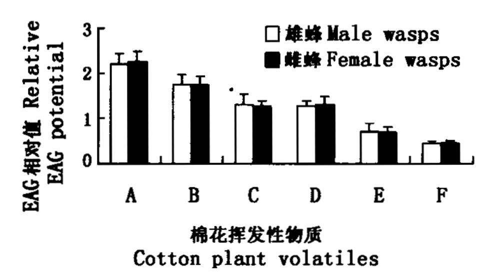


图1 雌雄中红侧沟茧蜂触角电位的比较

Fig. 1 Comparison of EAG response between female and male *M. mediator*

A：正己醛 Hexanal；B：顺-3-己烯基乙酸酯 cis-3-Hexenyl acetate，C：苯乙酮 Acetophone；D：苯甲醛 Benzaldhyde，E：正壬醇 Nonan-1-ol；F：（+）-苎烯（+）-Limonene

2.3 雌雄中红侧沟茧蜂的触角电位反应比较

由图1可以看出，对测定的6种化合物的触角电位反应，雌雄蜂的反应值比较接近。经过 *t*-测验，发现雌雄蜂之间的差异不显著（$P<0.05$）。

2.4 中红侧沟茧蜂雌蜂对4种化合物的剂量反应曲线

由图2～图5可知，中红侧沟茧蜂雌蜂的触角电位反应值随着化合物刺激剂量的增大而增大，在所测的剂量范围内，该蜂对4种化合物的反应均未达到饱和。其中，中红侧沟茧蜂对正己醛、苯乙酮、正壬醇的反应阈值为25 μL，苯甲醛的反应阈值为250 μL。

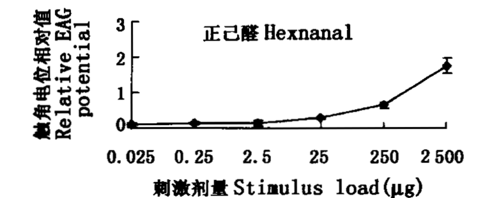


图2 中红侧沟茧蜂雌蜂对正己醛触角电位反应的剂量反应曲线

Fig. 2 EAG dose-response of female *M. mediator* to hexanal

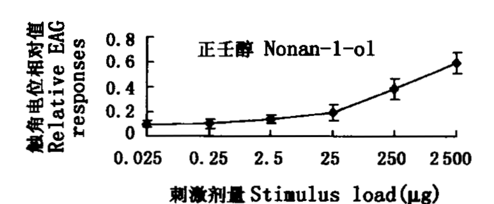


图3 中红侧沟茧蜂雌蜂对正壬醇触角电位反应的剂量反应曲线

Fig. 3 EAG dose-response of female *M. mediator* to nonan-1-ol

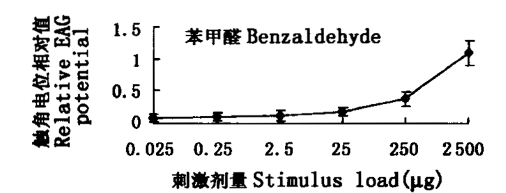


图4 中红侧沟茧蜂雌蜂对苯甲醛触角电位反应的剂量反应曲线

Fig. 4 EAG dose-response of female *M. mediator* to benzaldehyde

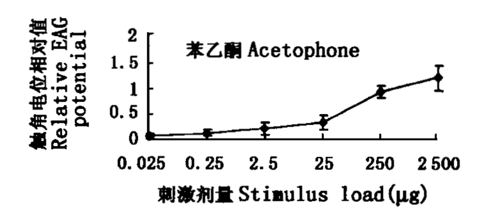


图5 中红侧沟茧蜂雌蜂对苯乙酮触角电位反应的剂量反应曲线

Fig. 5 EAG dose-response of female *M. mediator* to acetophone

3 讨论

在所测的棉花中的挥发性物质中，茧蜂的触角电位反应不因雌雄的差别而不同。而其寄主棉铃虫对植物挥发性物质的反应雌雄之间也不存在差异[17]。Li 等人在研究红足侧沟茧蜂对棉花中 29 种挥发性物质的触角电位反应时，也得出了相同的结论[16]。这可能是由于在长期的进化过程中，雌雄茧蜂生活同样的生境中，雌蜂利用植物挥发性物质寻找寄主，而雄蜂则利用植物挥发性物质和性信息素寻找雌蜂交配。

中红侧沟茧蜂对对棉花中挥发性物质反应值的不同表明，中红侧沟茧蜂的嗅觉感受器对来自寄主生境的的气味具有不同的敏感性和选择性。中红侧沟茧蜂对于正己醛、顺-3-己烯醇的反应显著高于对其它挥发性物质的反应。许多文献表明，这两种物质是普遍存在于植物中的绿叶气味物质，害虫取食植物后，植物会在短期内增加释放量，从而为天敌提供可靠的害虫存在的信息[14,18~19]。

Li 等人的研究发现红足侧沟茧蜂对正己醛的反应与对苯甲醛和苯乙酮的反应差异不显著[16]。这与中红侧沟茧蜂的情况大不相同。虽然中红侧沟茧蜂与红足侧沟茧蜂同属于茧蜂科 Microplitis 属，其主要寄主也相近（红足侧沟茧蜂的最主要寄主为美洲棉铃虫 *H. zea*）。但是，对于植物气味的选择性和敏感性则存在很大的差别。

低的反应阈值表明昆虫从较远的地方就能感受到化学信息物质，该化学信息物质为远距离化学物质；高的反应阈值则表明昆虫需要在较近的地方才能感受到化学信息物质，该化学信息物质为近距离化学物质[20]。中红侧沟茧蜂对苯甲醛的反应阈值高于对其它三种化学物质的反应阈值。表明中红侧沟茧蜂感受苯甲醛需要在离寄主所在的生境稍近一些的地方。

Whitman 和 Eller（1992）测定了红足侧沟茧蜂对 8 种绿叶气味物质的行为反应，包括正己醛、(E)-2-己烯醛、(E)-2-己烯-1-醇、(Z)-3-己烯-1-醇、(E)-2-己烯基乙酸酯、(Z)-3-己烯基乙酸酯、(Z)-3-己烯基丙酸酯、(Z)-3-己烯基丁酸酯。红足侧沟茧蜂对酯类的定向率最高，对醇类的定向率居中，对醛类的定向率最低。风洞中定向行为的剂量反应曲线表明，当绿叶气味物质的释放速率居中时，红足侧沟茧蜂的定向率最高，而当绿叶气味物质的释放速率过高或过低时，则反应率较低。他们认为植物中的绿叶气味物质为红足侧沟茧蜂提供了重要的化学信息，使之成功地找到寄主[21]。

由于各挥发性物质的挥发性不同，本文利用触角电位所做的上述比较具有一定的局限性。但是，上述结果为进一步的研究提供了实验基础，特别是为单细胞测定提供了理论依据。

致谢　在昆虫饲养方面得到中国科学院动物研究所秦启联博士的耐心指导与大力帮助。作者在此致以衷心的感谢。

参　考　文　献 (References)

[1] 王德安，南留柱，孙洗等. 棉铃虫低龄幼虫寄生蜂——侧沟茧蜂生物学研究. 昆虫天敌，1984，6（4）：211～216

[2] Vet L E M, Dicke M. Ecology of inforchemical use by natural enemies in a tritrophic context. Annu. Rev. Entomol. 1992，37：141～172

[3] Lewis W J, Martin W R. Semiochemicals for use with parasitoids: status and future. J. Chem. Ecol. 1990, 16 (11): 3067～3089

[4] Lewis W J, Tumlinson J H. Host detection by chemically mediated associative learning in a parasitic wasp. Nature 1988, 331: 257～259

[5] Minyard J P, Tumlinson J H, Hedin P A *et al*. Constituents of the cotton bud. Terpene hydrocarbon. J. Agric. Food Chem. 1965, 13: 599～602

[6] Minyard J P, Tumlinson J H, Thompson A C *et al*. Constituents of the cotton bud. The carbonyl compounds. J. Agric. Food Chem. 1967, 15: 517～524

[7] Minyard J P, Thompson A C, Hedin P A. Constituents of the cotton bud. Ⅷ. β-Bisabolol, a new sesquiterpene alcohol. J. Org. Chem. 1968, 33: 909～911

[8] Minyard J P, Hardee D D, Gueldner R C et al. Constitutes of the cotton bud compounds attractive to the boll weevil. J. Agric. Food Chem. 1969, 17 (5): 1 093～1 097

[9] Gueldner R C, Thompson A C, Hardee D D *et al*. Constituents of the cotton bud. XIX. Attractancy to the boll weevil of the terpenoids and related plant constitents. J. Econ. Entomol. 1970, 63 (6): 1 819～1 821

[10] Hedin P A, Thompson A C, Gueldner R C. Constituents of the cotton bud. Phytochemistry, 1971, 10: 3316～3319

[11] Hedin P A, Thompson A C, Gueldner R C *et al*. Egyptian cotton leaf essential oil. Phytochem. 1972, 11: 2 356～2 357

[12] Hedin P A, Thompson A C, Gueldner R C. Survey of the air space volatiles of the cotton plant. Phytochemistry. 1975, 14: 2 088～2 090

[13] Hendin P A. Seasonal variation in the emission of volatiles by cotton plants in the field. Environ. Entomol. 1976, 5: 1 234～1 238

[14] Röse U S R, Manukian A, Heath R R *et al*. Volatile semiochemicals released from undamaged cotton leaves. Plant Physiol. 1996, 111: 487～495

[15] Elzen G W, Willams H J, Bell A A *et al*. Stipanovic, and S. Bradleigh Vinson. Quantification of volatile terpenes of glanded and glandless *Gossypium hirsutum* L. cultivars and lines by gas chromatography. J. Agric. Food Chem. 1985, 33: 1 079～1 082

[16] Li Y S, Dickens J C, Steiner W W M. Antennal olfactory responsiveness of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) to cotton plant volatiles. J. Chem. Ecol. 1992, 18 (10): 1 761～1 774

[17] Chen X, Hou Z Y, Zhang Y *et al*. Olfactory responses of cotton bollworm, *Helicoverpa amigera*, to sex pheromone and plant volatile components. Entomologia Sinica 1997, 4 (2): 159～172

[18] De Moraes C M, Lewis W J, Paré P W *et al*. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. Nature 1998, 393: 570～572

[19] Ramachandran R, Norris D M. Volatiles mediating plant-herbivore-natural enemy interactions: Electroantennaogram responses of soybean looper, *Pseudopusia includens*, and a parasitoid, *Microplitis demolitor*, to green leaf volatiles. J. Chem. Ecol. 1991, 17 (8): 1 665～1 690

[20] Dickens J C. Olfaction in the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae): Electroantennogram studies. J. Chem. Ecol. 1984, 10: 1 759～1 785

[21] Whitman D W, Eller F J. Orientation of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: braconidae) to green leaf volatiles dose-response curves. J. Chem. Ecol. 1992, 18 (10): 1 743～1 753

Electroantennal responses of a parasitoid (*Microplitis mediator*) to cotton plant volatiles

DONG Wen-xia, WANG Rui, ZHANG Zhong-ning

(State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insect and Rodents, Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

Abstract: *Microplitis mediator* is one of the key parasitoid wasps which attack cotton bollworm *Helicoverpa amigera*. The odors released from host plants serve vital roles in its host-finding behavior. Electroantennograms were recorded from female *Microplitis mediator* to 17 cotton volatile compounds. The EAG differences between female and male wasps to 6 compounds were compared, and EAG dose-response curves were also constructed for females to 4 compounds. Aliphatic compounds elicited the largest EAGs. Aromatic derivatives elicited moderate EAGs, while terpenoid elicited the lowest EAGs. No sexual difference was found in EAGs to 6 compounds. The load thresholds for hexanal, acetophone and nonanol were 25 μL, while that for bezenaldhyde was 250 μL. None of the compounds reached saturation at the stimulus load series.

Key words: *Microplitis mediator*; volatile compounds; electroantennogram responses; dose-response curves